

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek - Gent
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ
Directeur: P. HOVART

HET BEREKENEN VAN MPN-WAARDEN
BASIC-PROGRAMMA'S.

W. DESCHACHT

Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (CLO Gent)
Publicatie nr 194
D/1984/0889/15

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek - Gent
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ
Directeur: P. HOVART

HET BEREKENEN VAN MPN-WAARDEN
BASIC-PROGRAMMA'S.

W. DESCHACHT

INLEIDING.

Het ligt voor de hand dat men bij een onderzoek naar de kwaliteit van een voedingsmiddel of van water tot een betrouwbare uitspraak wil komen. Dit vereist evenwel een voorafgaandelijke kennis van de distributie van de te meten parameter en van de reproduceerbaarheid van de gebezigde meettechniek. Zo worden bijvoorbeeld bij het onderzoek van de salubriditeit van het water tellingen en identificaties van bacteriën uitgevoerd. Voor het kwantitatieve aspect wordt bij een dergelijk onderzoek van twee verschillende technieken gebruik gemaakt, met name van de membraan-filter-methode of van een verdunningstechniek die aangeduid wordt als de 'most probable number' (MPN) methode (JOHNSON, 1979).

Het ligt niet in de bedoeling nader in te gaan op de merites en de gebreken van de respectieve technieken. De aandacht wordt alleen gevestigd op twee feiten die betrekking hebben op de laatst genoemde werkwijze. Het is in de eerste plaats mogelijk om langs theoretische weg de standaardafwijking te berekenen, wat een ex ante beoordeling van de reproduceerbaarheid toelaat (BOARD, 1983). Vervolgens kan gewezen worden op het gebonden zijn aan voorafgaandelijk berekende tabellen. Dit kan als een beperking van de methode worden ervaren. Immers alleen voor welbepaalde voorwaarden qua aantal replica's per verdunning en qua verdunningsfactoren werd uit het aantal positieve antwoorden de bacteriële densiteit berekend.

Inmiddels is gebleken (DESCHACHT, 1983) dat met behulp van pretentieloze rekenapparatuur iedere onderzoeker de tabellen kan opstellen die vereist zijn om de metingen te verrichten onder de voor zijn omstandigheden optimale voorwaarden. Daar het berekenen van een enkele MPN-waarde zowat twee minuten duurt, zullen slechts weinig onderzoekers geneigd zijn om bij routineonderzoek af te zien van het gebruik van tabellen. Deze resterende beperking leek te ondervangen dankzij de snelle ontwikkeling van de electronica, vermits de proliferatie van de micro-processor ook kleine laboratoria de mogelijkheid biedt om relatief complexe berekeningen snel uit te voeren. De mogelijkheden van dit soort uitrusting in verband met de berekening van MPN-waarden werden dan ook getoetst.

MATERIALEN EN METHODES.

Er werd uitgegaan van de door PARNOW (1972) naar voor geschoven relatie:

$$\sum (N_i - P_i) V_i = \sum [P_i V_i e^{-V_i D} / (1 - e^{-V_i D})] \quad [1]$$

In deze uitdrukking wordt aan de symbolen de hierna volgende betekenis toegekend:

N_i : het aantal vergistingsbuizen in het i -de verdunningsniveau;

P_i : het aantal positieve vergistingsbuizen in het i -de verdunningsniveau;

V_i : het volume van het te onderzoeken materiaal waarmee ieder vergistingsbuis van het i -de verdunningsniveau werd geënt;

D : de bacteriële densiteit van het onderzochte materiaal, uitgedrukt in 'aantal organismen per ml';

e : grondtal van de natuurlijke logaritmen.

De berekening van D kan slechts via een iteratieve benadering gebeuren. Daartoe werden twee programma's geschreven. In het eerste, PI, werd de berekening beëindigd wanneer een gekozen getal, hierna aangeduid als REF, groter dan wel gelijk werd aan het relatieve verschil tussen twee consecutief berekende D -waarden. Met andere woorden het resultaat werd als voldoende benaderend beschouwd, wanneer voldaan werd aan de volgende relatie:

$$REF \geq (100 \times |D^* - D^{**}|) / D^{**}$$

met D^* : een berekende D -waarde en

D^{**} : de vervolgens berekende D -waarde.

In het tweede programma, PII, werd de berekening afgebroken wanneer REF groter dan wel gelijk werd aan het relatieve verschil tussen het linker- (LL) en het rechterlid (RL) van de vergelijking [1], zodat de gebeziide relatie gelijk wordt aan:

$$REF \geq (100 \times |LL - RL|) / LL$$

Beide programma's werden geschreven in BASIC, een Basic variante die loopt op de EXORSET 30 van MOTOROLA. Vermits de berekende MPN-waarden uiteindelijk vergeleken moeten worden aan gegevens die in de literatuur gevonden worden, werd bij het ontwikkelen van beide programma's met de volgende restricties rekening gehouden:

1. er zijn drie verdunningsniveaus;
2. op ieder niveau wordt een gelijk aantal buizen ingeënt;
3. er wordt EEN konstante verdunningsfactor van 10 gebruikt, zodat de verschillende buizen op de respectieve niveaus met een hoeveelheid van 1,0; 0,1 en 0,01 ml van het te onderzoeken materiaal 'geënt' worden.

RESULTATEN.

Bij de uitvoering van beide programma's werd gebruik gemaakt van REF-waarden van 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 en 8,0. Er werden MPN-waarden berekend voor 'experimenten' waarin 2, 3, 5, 8 of 10 vergistingsbuizen per verdunningsniveau gebezigd werden. Rekening houdende met de mogelijkheden die vervat lagen in de diverse combinaties van voorwaarden werden 16, 30 of 50 kenmerkggetallen uit bestaande tabellen (FINSTEIN, 1972; MEYNELL & MEYNELL, 1975) gekozen als 'experimentele' resultaten. De kenmerkggetallen werden als gegevens ingevoerd en de tijd die nodig was voor het geheel van de operatie, dit is het invoeren en het berekenen, werd bepaald voor ieder 'resultaat'. Deze metingen werden met beide programma's verricht. De berekeningen werden vervolgens hernomen met PI, maar de tijdsmeting had betrekking op de berekeningstijd. Voor iedere reeks werd de gemiddelde tijd, de standaardafwijking, de skewness en de kurtosis berekend. Deze informatie werden samengebracht in de tabellen 1 tot en met 3.

BESPREKING.

De waarden van de skewness en de kurtosis wijzen op het normaal verdeeld zijn van de gegevens. Het verschil met de gegevens die middels de programmeerbare zakrekenmachine werden bekomen is duidelijk. In laatst genoemde geval werd een normale verdeling niet weerhouden (DESCHACHT, 1983). Wel dient men te bedenken dat zelfs 50 waarnemingen per reeks nog een relatief klein aantal is, zodat een nader onderzoek van deze hypothese gewenst is. Binnen het raam van deze bespreking werd hiervan nochtans afgezien, enerzijds omdat het uitwerken van een variantieanalyse met een verschillend aantal replica's geen eenvoudige opgave is en anderzijds omdat een gemakkelijke vergelijking met de vroeger bekomen resultaten wenselijk geacht werd. Het onderzoek van de

TABEL 1. PROGRAMMA I. Invoeren van de gegevens en uitvoeren van de berekeningen.

Voorwaarden	N	Gemiddelde tijd (sec)	St. Afw. (sec)	Skewness	Kurtosis
2B/.5	16	5.36	0.31	-0.562	2.502
2B/1	16	5.01	0.35	0.095	2.410
2B/2	16	4.84	0.31	-1.097*	3.595
2B/4	16	4.46	0.31	-0.354	2.207
2B/8	16	4.32	0.31	-0.084	1.738
3B/.5	30	5.24	0.29	-0.670	3.676
3B/1	30	5.01	0.32	-0.363	2.867
3B/2	30	4.75	0.32	-0.460	3.212
3B/4	30	4.55	0.36	-0.492	2.330
3B/8	30	4.30	0.36	0.184	2.564
5B/.5	30	5.16	0.27	0.441	2.894
5B/1	30	5.02	0.32	-0.183	2.638
5B/2	30	4.70	0.59	-2.622**	12.281**
5B/4	30	4.53	0.33	-0.163	1.991
5B/8	30	4.34	0.33	-0.129	2.261
8B/.5	50	5.01	0.35	0.143	2.705
8B/1	50	4.79	0.34	-0.369	3.374
8B/2	50	4.54	0.31	-0.285	2.365
8B/4	50	4.25	0.27	0.238	2.499
8B/8	50	3.99	0.34	-0.303	5.427**
10B/.5	50	5.28	0.47	0.760*	3.519
10B/1	50	4.98	0.40	0.308	3.218
10B/2	50	4.90	0.44	0.200	3.049
10B/4	50	4.55	0.43	0.443	2.626
10B/8	50	4.38	0.41	0.432	2.167
* : significant bij 0.95 (tweezijdig toetsen)					
** : significant bij 0.99 (tweezijdig toetsen)					
Voorwaarden : aantal buizen/REF					

TABEL 2. PROGRAMMA II. Invoeren van de gegevens en uitvoeren van de berekeningen.

Voorwaarden	N	Gemiddelde tijd (sec)	St. Afw. (sec)	Skewness	Kurtosis
2B/.5	16	6.14	1.30	1.356*	4.684*
2B/1	16	5.28	1.18	0.229	2.982
2B/2	16	4.56	0.95	0.123	2.504
2B/4	16	4.17	0.82	0.722	2.786
2B/8	16	3.79	0.56	0.377	2.523
3B/.5	30	6.01	1.08	0.783	4.689*
3B/1	30	5.53	1.14	0.219	2.162
3B/2	30	5.23	0.82	0.410	3.051
3B/4	30	4.44	0.68	0.427	2.558
3B/8	30	4.07	0.43	0.385	2.693
5B/.5	30	6.41	1.48	0.692	2.630
5B/1	30	5.43	0.85	0.747	3.563
5B/2	30	4.88	0.76	0.199	2.636
5B/4	30	4.49	0.82	-0.006	2.291
5B/8	30	4.03	0.53	-0.230	2.692
8B/.5	50	6.37	1.34	0.470	2.433
8B/1	50	5.74	1.20	0.333	3.376
8B/2	50	5.09	0.85	0.320	2.482
8B/4	50	4.61	0.60	0.061	2.198
8B/8	50	4.02	0.53	0.153	3.186
10B/.5	50	6.41	1.42	0.171	2.237
10B/1	50	5.63	1.28	0.277	2.366
10B/2	50	4.77	0.99	0.394	2.894
10B/4	50	4.50	0.87	0.446	3.094
10B/8	50	4.06	0.68	0.118	2.948

* : significant bij 0.95 (tweezijdig toetsen)

** : significant bij 0.99 (tweezijdig toetsen)

Voorwaarden: aantal buizen/REF

TABEL 3. PROGRAMMA I. Tijd nodig voor het uitvoeren van de berekeningen.

Voorwaarden	N	Gemiddelde tijd(sec)	St. Afw. (sec)	Skewness	Kurtosis
2B/.5	16	2.73	0.27	0.331	2.315
2B/1	16	2.50	0.24	-0.062	1.769
2B/2	16	2.30	0.20	0.197	1.856
2B/4	16	2.03	0.22	0.673	4.508
2B/8	16	1.86	0.19	0.380	2.275
3B/.5	30	2.60	0.25	-0.208	2.248
3B/1	30	2.42	0.24	0.226	1.867*
3B/2	30	2.18	0.21	0.248	2.986
3B/4	30	2.01	0.19	-0.035	2.956
3B/8	30	1.76	0.19	-0.369	2.303
5B/.5	30	2.59	0.25	-0.312	2.641
5B/1	30	2.39	0.24	0.104	2.073
5B/2	30	2.22	0.19	0.490	2.261
5B/4	30	1.96	0.20	-0.334	2.205
5B/8	30	1.78	0.22	-0.062	1.883*
8B/.5	50	2.52	0.21	0.162	2.608
8B/1	50	2.33	0.19	0.149	2.407
8B/2	50	2.11	0.19	0.342	2.665
8B/4	50	1.85	0.19	0.226	2.615
8B/8	50	1.69	0.20	0.168	2.045*
10B/.5	50	2.49	0.25	-0.576	4.409*
10B/1	50	2.29	0.25	0.483	2.044
10B/2	50	2.06	0.22	-0.100	2.024
10B/4	50	1.84	0.23	0.440	1.872**
10B/8	50	1.64	0.22	0.423	2.509
* : significant bij 0.95 (tweezijdig toetsen)					
** : significant bij 0.99 (tweezijdig toetsen)					
Voorwaarden: aantal buizen/REF					

verschillen tussen de gegevens werd dan ook, zoals voorheen (DE-SCHACHT, 1983), met behulp van niet-parametrische testen uitgevoerd.

Het verschil tussen de gemiddelde waarden vermeld in tabel 1 en deze in tabel 3 levert een gemiddelde invoertijd op voor de desbetreffende reeks experimenten. Deze resultaten werden met behulp van Friedman's test onderzocht (SOKAL & ROHLF, 1969). De gegevens, die respectievelijk de invloed van het aantal vergistingsbuizen en van de REF-waarde op de invoertijd illustreren, zijn in de tabellen 4 en 5 opgenomen.

TABEL 4. Resultaten PI - Invloed aantal buizen op invoertijd.

Aantal buizen	2	3	5	8	10
REF-waarden	Rangsetallen				
0.5	3	4	2	1	5
1.0	2	3	4	1	5
2.0	3	4	2	1	5
4.0	2	3	4	1	5
8.0	2	3	4	1	5
Som	12	17	16	5	25
Chi-kwadraat: 17.12					
Vrijheidsgraden: 4					
Significant: 0.99					

TABEL 5. Resultaten PI - Invloed REF-waarde op de invoertijd.

REF-waarden	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
Aantal buizen	Rangsetallen				
2	5	3	4	1	2
3	5	4	3	1.5	1.5
5	3.5	5	1	3.5	2
8	5	4	3	2	1
10	5	1	4	2	3
Som	23.5	17	15	10	9.5
Chi-kwadraat: 10.52					
Vrijheidsgraden: 4					
Significant: 0.95					

De zeer significante invloed van het aantal buizen laat zich vrij gemakkelijk verklaren. Het intoetsen van het kenmerksetal is een rechterhand-operatie, niet als gevolg van de opbouw van het klavier, maar omwille van het controleren van een chronometer met de linkerhand. De experimenten met 10 buizen per niveau vereisen evenwel het invoeren van 5 of 4 cijfers. De kenmerketallen voor alle andere experimenten omvatten slechts 3 cijfers. De systematisch hoogste rangorde voor de eerstgenoemde is hiermede duidelijk. De systematisch laagste rangorde van de 8-buizen experimenten wordt dan gezien als een gevolg van de combinatie van de 'rechterhand-operatie' aan de opbouw van het toetsenbord. Een afzonderlijke blok met cijfertoetsen ontbrak. Het invoeren van de gegevens vereist de dubbele operatie: aanslaan cijfertoets gevolgd door het aanslaan van de 'rechts' geplaatste 'return' toets om het invoeren te voltooien. De afstand die de rechterhand hierbij moet afleggen is kleinst voor de hoogste cijfertoetsen, de nul-toets uitgezonderd. De cijfers 6, 7 en 8 worden slechts aangetroffen in de 8-buizen experimenten.

Geheel buiten verwachting kwam een zwakke invloed van de REF waarde op de invoertijd aan het licht. Gemeend wordt dat dit een gevolg is van de proefopzet. De berekeningen werden inderdaad steeds in dezelfde volgorde uitgevoerd. Voor een gegeven aantal buizen, T_i , werd steeds begonnen met een REF-waarde van 0.5 om te eindigen met de waarde 8.0. De vertrouwdeheid met de in te voeren kenmerketallen nam dus toe met een toenemende REF-waarde.

Wordt met de sterke invloed van het aantal buizen wel en met de zwakke invloed van de REF-waarde geen rekening gehouden, dan bedraagt de gemiddelde invoertijd voor kenmerketallen met 3 cijfers 2.5 seconden en voor deze met 4 of 5 cijfers 2.75 seconden. Deze gemiddelden berusten op respectievelijk 530 en 250 waarnemingen.

De Friedman test werd eveneens bij het onderzoek van de gegevens uit de tabellen 1 tot en met 3 aangewend. De resultaten hiervan werden in de tabellen 6 tot en met 11 opgenomen. Het is duidelijk dat een groot gedeelte van de globale tijd aangewend wordt voor de invoer van de gegevens. Deze tijdsduur is van een

TABEL 6. Resultaten PI - Invloed aantal buizen op globale tijd.

Buizen	2	3	5	8	10
REF-waarden	Rangsetallen				
0.5	5	3	2	1	4
1.0	3.5	3.5	5	1	2
2.0	4	3	2	1	5
4.0	2	4.5	3	1	4.5
8.0	3	2	4	1	5
Som	17.5	16	16	5	20.5
Chi-kwadraat: 12.72					
Vrijheidsgraden: 4					
Significant: 0.95					

TABEL 7. Resultaten PI - Invloed REF-waarden op de globale tijd.

REF-waarden	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
Aantal buizen	Rangsetallen				
2	5	4	3	2	1
3	5	4	3	2	1
5	5	4	3	2	1
8	5	4	3	2	1
10	5	4	3	2	1
Som	25	20	15	10	5
Chi-kwadraat: 20.00					
Vrijheidsgraden: 4					
Significant: 0.99					

TABEL 8. Resultaten PI - Invloed aantal buizen op de netto-berekeningstijd.

Aantal buizen	2	3	5	8	10
REF-waarden	Rangsetallen				
0.5	5	4	3	2	1
1.0	5	4	3	2	1
2.0	5	3	4	2	1
4.0	5	4	3	2	1
8.0	5	3	4	2	1
Som	25	18	17	10	5
Chi-kwadraat: 19.04					
Vrijheidsgraden: 4					
Significant: 0.99					

TABEL 9. Resultaten PI - Invloed REF-waarde op de netto-berekeningstijd.

REF-waarden	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
Aantal buizen	Rangsetallen				
2	5	4	3	2	1
3	5	4	3	2	1
5	5	4	3	2	1
8	5	4	3	2	1
10	5	4	3	2	1
Som	25	20	15	10	5

Chi-kwadraat: 20.00
 Vrijheidsgraden: 4
 Significant: 0.99

TABEL 10. Resultaten PII - Invloed aantal buizen op de globale tijd.

Aantal buizen	2	3	5	8	10
REF-waarden	Rangsetallen				
0.5	2	1	4.5	3	4.5
1.0	1	3	2	5	4
2.0	1	5	3	4	2
4.0	1	2	3	5	4
8.0	1	5	3	2	4
Som	6	16	15.5	19	18.5

Chi-kwadraat: 8.24
 Vrijheidsgraden: 4
 Significant: NIET

TABEL 11. Resultaten PII - Invloed REF-waarde op de globale tijd.

REF-waarden	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
Aantal buizen	Rangsetallen				
2	5	4	3	2	1
3	5	4	3	2	1
5	5	4	3	2	1
8	5	4	3	2	1
10	5	4	3	2	1
Som	25	20	15	10	5

Chi-kwadraat: 20.00
 Vrijheidsgraden: 4
 Significant: 0.99

dusdanige orde van grootte dat het vervangen van de tabellen door een berekende MPN-waarde kan worden overwogen. Zoals mag verwacht worden treedt er een sterke invloed op van de REF-waarde op de globale en op de netto-berekeningstijd, deze wordt korter naarmate de REF-waarde stijgt. De manier waarop het einde van de berekeningen wordt bepaald is daarbij irrelevant.

Minder eenduidig is de invloed van het aantal buizen op de berekeningstijd. Op grond van vergelijking [1] wordt, voor een gegeven aantal niveaus, geen dergelijke invloed verwacht. Uit de analyse van de netto-berekeningstijden blijkt evenwel een zeer significante invloed op te treden. Dit verschijnsel wordt, ten dele althans, toegeschreven aan de grote onnauwkeurigheid waarmee de tijdmetingen verliepen. Een verbetering van de relatieve nauwkeurigheid bij het meten van de langere tijdsintervallen bij de globale berekeningstijden zwakt bij de PI experimenten deze invloed af en ze verdwijnt geheel en al bij de PII experimenten.

Met het oog op een eventueel gebruik van deze techniek is de globale tijdsduur een belangrijker element dan de netto-berekeningstijd. Mits de zwakke invloed van het aantal vergistingsbuizen wordt verwaarloosd, kan een meer algemeen model gebruikt worden voor een schatting van de globale berekeningstijd. De reeds toegepaste transformatie (DESCHACHT, 1983) wordt gebruikt:

$$\text{Tijd (seconden)} \times \text{REF} = A + B \cdot \text{REF} \quad [2]$$

Met behulp van de gemiddelden als de beste schattingen werd dan voor iedere set van proefvoorwaarden de best aangepaste rechte doorheen de beschikbare punten berekend. De gevonden intercepten en richtingscoëfficiënten, hun respectieve standaardafwijkingen en de determinatiecoëfficiënt werden in tabel 12 samengebracht.

Uit deze eerste analyse blijkt dat de experimentele waarden goed aansluiten op het model. De mogelijkheden voor een nog verder doorgedreven generalisatie werden met behulp van een variantieanalyse op de richtingscoëfficiënten onderzocht. Hierbij kwamen zeer significante verschillen aan het licht tussen de B-waarden die voor de PI-resultaten gevonden werden. Op basis van een vi-

TABEL 12. Het lineaire model voor de getransformeerde gegevens uit tabel 1 en 2.

Voor- waarden	Inter- cept A	SD op A	Gra- diënt B	SD op B	Determinatie- coëfficiënt
PI - 2B	0.85	0.19	4.228	0.047	0.9996
PI - 3B	0.85	0.17	4.225	0.041	0.9994
PI - 5B	0.73	0.18	4.270	0.045	0.9997
PI - 8B	0.96	0.28	3.902	0.058	0.9991
PI -10B	0.80	0.23	4.000	0.035	0.9995
PII- 2B	1.69	0.30	3.615	0.073	0.9998
PII- 3B	1.81	0.50	3.887	0.121	0.9971
PII- 5B	1.75	0.41	3.862	0.099	0.9980
PII- 8B	2.05	0.59	3.835	0.143	0.9959
PII-10B	1.71	0.36	3.890	0.088	0.9985
Voorwaarden: berekeningswijze-aantal buizen					
SD: standaardafwijking					

suele inspectie van de gegevens werd gemeend dat de experimenten met 8 buizen hiervan de oorzaak waren. De berekeningen werden hernomen na het elimineren van voornoemde gegevens. De nieuwe variantieanalyse bracht geen verdere significante verschillen meer aan het licht. Ook het onderzoek van de PII gegevens bracht geen significante verschillen aan het licht. Bij het gebruik van PI kan de tijd nodig voor het invoeren van het kenmerketal en het berekenen van de MPN-waarden geraamd worden middels de vergelijking:

$$\text{Tijd (seconden)} = (0.8076/\text{REF}) + 4.2556 \quad [3]$$

en bij het aanwenden van PII geldt de relatie:

$$\text{Tijd (seconden)} = (1.8027/\text{REF}) + 3.8177 \quad [4]$$

Vermits in [3] het intercept groter maar de richtingscoëfficiënt kleiner is dan in [4], bestaat er een REF-waarde waarvoor geldt dat [3] = [4]. Hieruit kan dan voor deze REF-waarde het getal 2.27 afgeleid worden. Voor een kleinere REF-waarde draait PI sneller dan PII en vice versa voor een grotere.

Het is duidelijk dat het berekenen van een MPN-waarde slechts weinig tijd veret. Dit opent wijde perspectieven voor het uittesten van allerlei verdunningschema's bij het onderzoek van zeer uiteenlopende substraten. Daartoe is uiteraard een foutloos opereren van de programma's vereist. Dit werd beoordeeld door het verband tussen gepubliceerde en berekende MPN-waarden te onderzoeken. Indien een perfecte overeenstemming bestaat, dan moet een lineair verband met een intercept = 0.00 en een gradiënt = 1 uit de bus komen. De resultaten van dit onderzoek werden in de tabellen 13 en 14 samengebracht. Het verschil tussen de verwachte en de gevonden waarden werd met een t-test beoordeeld. Hierbij werden, vooral voor de gradiënt, heel wat significante verschillen gevonden. Op grond van de volgende overwegingen:

- er is een zeer breed meetinterval;
- er zijn veel meer lage dan hoge waarden;
- de kans dat de afwijkingen elkaar opheffen is derhalve groot voor de zone met de lage en laag voor deze met de hoge bacteriële densiteit,

werd de relatie niet direct verworpen, maar werd eerst een log-log transformatie op de gegevens toegepast. Hierdoor worden de waarden veel gelijkmatiger over het interval gespreid. Als gevolg hiervan verdwijnen de significante tot zeer significante verschillen met uitzondering van deze gevonden bij de experimenten met 5 buizen. Kennelijk treden hierbij kleine, maar systematische verschillen ten opzichte van het model op. De hoge waarde van de determinatiecoëfficiënt duidt op een goed aansluiten van de punten bij de lineaire betrekking.

De beschikbare gegevens brengen een invloed van de REF-waarde aan het licht. Een grotere REF-waarde leidt vrijwel altijd tot een lagere waarde voor de determinatiecoëfficiënt, met andere woorden tot een minder goede overeenstemming tussen de berekende en de in de literatuur opgegeven MPN-waarde. Deze situatie wordt gevisualiseerd in de figuren 1 en 2. Hierin worden de resultaten die bekomen werden met behulp van de PI en de PII-gegevens samengevat. Daartoe werd in een reeks waarnemingen met een gegeven aantal buizen de hoogste waarde van de berekende determinatiecoëfficiënten als referentiewaarde aangenomen en de afwij-

TABEL 13. De overeenstemming tussen de PI-resultaten en de gesevens uit de literatuur.

Voor- waarden	N	Niet-getransfor- meerd		log-getransformeerd		
		A	B	A	B	Dc
28/0.5	16	-0.0229	1.0027	-0.0077	1.0027	0.99921
28/1	16	-0.0521	1.0064	-0.0073	1.0022	0.99927
28/2	16	-0.0806	1.0153*	-0.0087	1.0039	0.99921
28/4	16	-0.1777	1.0317**	-0.0087	1.0037	0.99897
28/8	16	-0.3173	1.0634**	-0.0137	1.0093	0.99859
38/0.5	30	-0.0016	0.9994	0.0020	0.9975	0.99865
38/1	30	0.0072	0.9907	0.0036	0.9963	0.99861
38/2	30	0.0415	0.9914*	0.0047	0.9957	0.99855
38/4	30	0.1196	0.9840**	0.0036	0.9965	0.99826
38/8	30	0.2414	0.9665**	0.0102	0.9927	0.99776
58/0.5	30	-0.0298	1.0018	-0.0101*	1.0034*	0.99998
58/1	30	-0.0732	1.0054**	-0.0093*	1.0032	0.99992
58/2	30	-0.1213	1.0096**	-0.0085*	1.0030	0.99992
58/4	30	-0.2731*	1.0229**	-0.0173**	1.0060*	0.99984
58/8	30	-0.6052*	1.0491**	-0.0331**	1.0108*	0.99930
88/0.5	50	0.0066	0.9991	0.0008	0.9996	0.99999
88/1	50	-0.0489*	1.0024**	-0.0027	1.0007	0.99997
88/2	50	0.0515	0.9970*	-0.0016	1.0003	0.99992
88/4	50	0.3163*	0.9854**	-0.0040	1.0013	0.99962
88/8	50	0.1941	0.9899	0.0006	0.9996	0.99869
108/0.5	50	0.0591	0.9993	0.0037	0.9994	0.99990
108/1	50	-0.0268	1.0029**	-0.0028	1.0013	0.99989
108/2	50	-0.1538*	1.0083**	-0.0065	1.0025	0.99982
108/4	50	-0.4534**	1.0247**	-0.0298*	1.0102**	0.99939
108/8	50	-0.4925	1.0293**	-0.0444	1.0143	0.99701

Voorwaarden: aantal buizen/REF-waarde

N: aantal

A: intercept

B: gradient

Dc: determinatiecoëfficiënt

Significantieniveau: * : 0.95

** : 0.99

TABEL 14. De overeenstemming tussen de PII-resultaten en de gegevens uit de literatuur.

Voor- waarden	N	Niet-getransfor- meerd		log-getransformeerd		
		A	B	A	B	Dc
2B/0.5	16	-0.0063	0.9988	-0.0075	1.0019	0.99920
2B/1	16	0.0024	0.9990	-0.0088	1.0033	0.99926
2B/2	16	0.0112	0.9989	-0.0017	1.0006	0.99922
2B/4	16	0.0101	0.9989	-0.0056	1.0025	0.99976
2B/8	16	0.0187	0.9987	0.0029	0.9996	0.99869
3B/0.5	30	-0.0158	1.0008	0.0018	0.9975	0.99862
3B/1	30	-0.0106	1.0010	0.0024	0.9975	0.99865
3B/2	30	0.0319	0.9934	0.0041	0.9960	0.99844
3B/4	30	-0.0130	1.0210**	-0.0010	1.0008	0.99848
3B/8	30	0.2875	0.9631**	0.0078	0.9956	0.99803
5B/0.5	30	-0.0474	1.0037**	-0.0102**	1.0036*	0.99994
5B/1	30	-0.0443	1.0042**	-0.0098**	1.0035*	0.99993
5B/2	30	0.0142	1.0004	-0.0114**	1.0044*	0.99992
5B/4	30	0.0574	0.9959	-0.0056	1.0028	0.99986
5B/8	30	0.0763	0.9937*	0.0033	0.9999	0.99964
8B/0.5	50	-0.0223	1.0010*	0.0001	1.0000	0.99999
8B/1	50	-0.0263	1.0014**	-0.0011	1.0003	0.99998
8B/2	50	0.0584	0.9984	0.0025	0.9995	0.99993
8B/4	50	-0.2007**	1.0076**	-0.0013	0.9997	0.99978
8B/8	50	0.0420	1.0092**	-0.0039	1.0042	0.99897
10B/0.5	50	0.0250	1.0004	0.0033	0.9995	0.99989
10B/1	50	0.0291	0.9997	0.0033	0.9994	0.99990
10B/2	50	0.1817**	0.9938**	0.0065	0.9984	0.99982
10B/4	50	-0.0775	1.0012	-0.0004	0.9998	0.99963
10B/8	50	0.4355**	0.9817**	0.0319*	0.9905*	0.99922

Voorwaarden: aantal buizen/REF-waarde

N: aantal

A: intercept

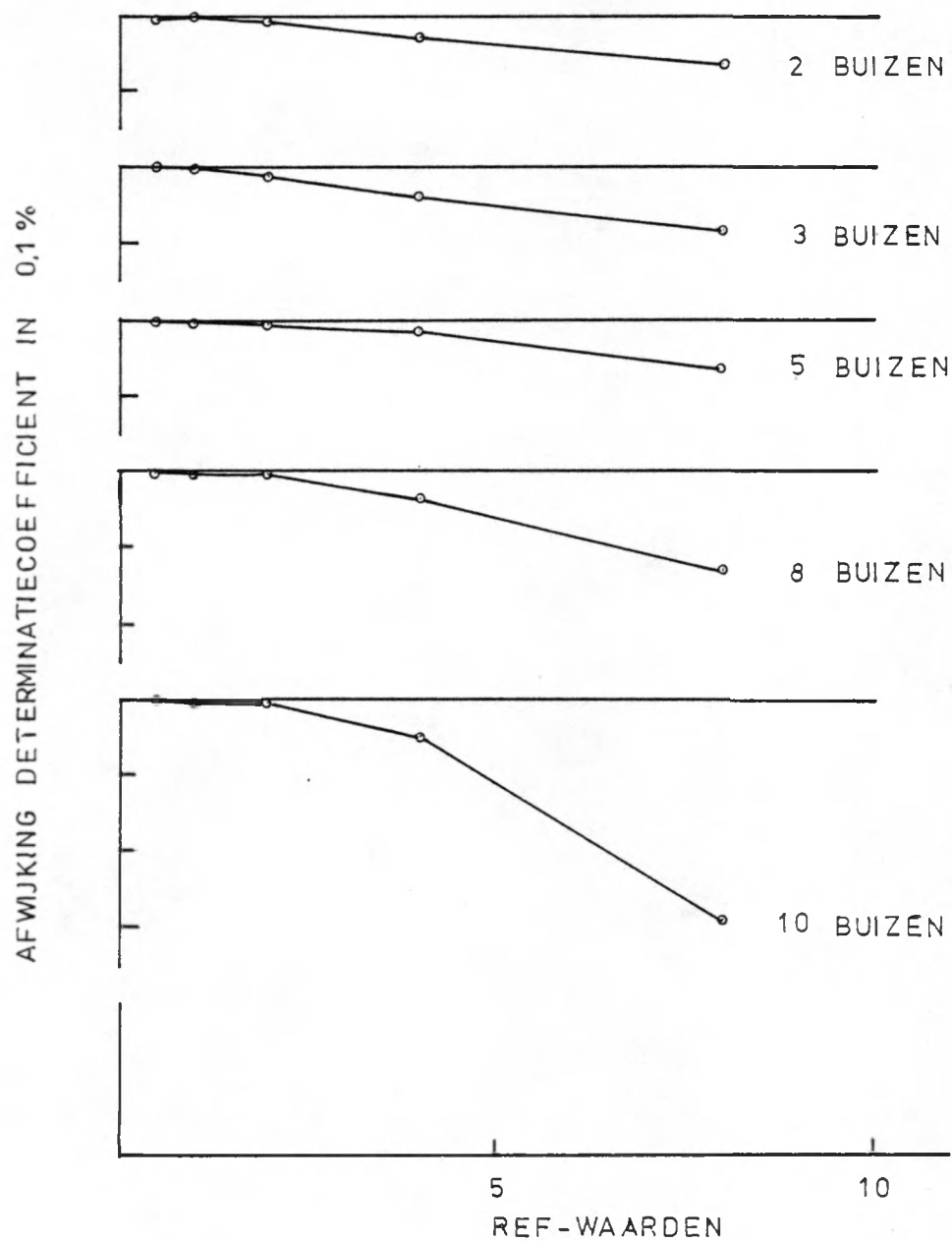
B: gradient

Dc: determinatiecoëfficiënt

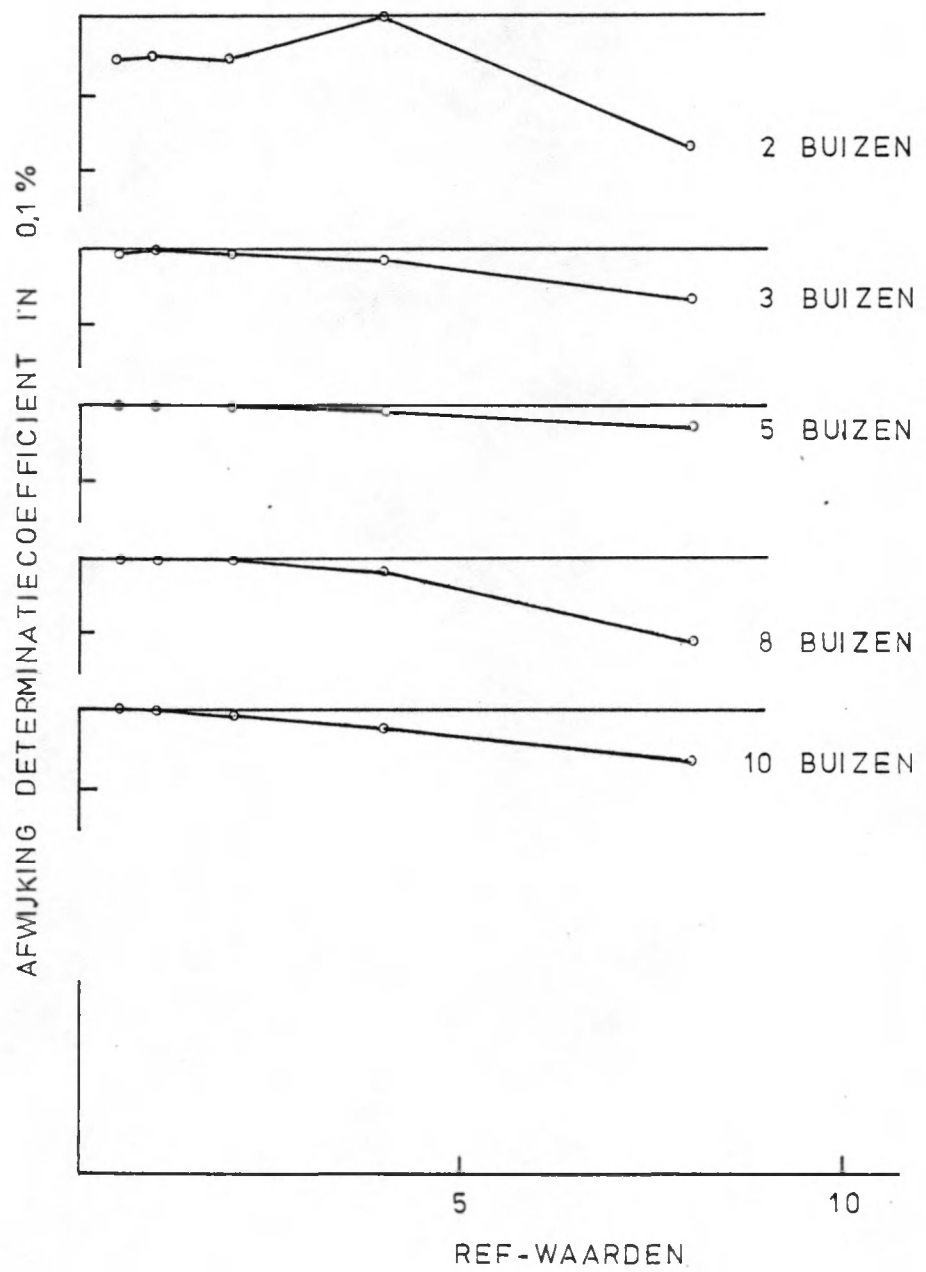
Significantieniveau: * : 0.95

** : 0.99

Figuur 1. Programma I. Relatieve evolutie
van de determinatiecoëfficiënten.



Figuur 2. Proëramma II. Relatieve evolutie
van de determinatiecoëfficiënten.



kingen hiertegenover werden uitgezet. Die vaststelling ligt in de lijn van de verwachtingen. Hoe groter de REF-waarde hoe groter de afwijking kan zijn op het oogenblik dat de berekeningen afgebroken worden en hoe groter de kans op een minder goede overeenkomst. Deze conclusie sluit echter geen uitspraak in met betrekking tot de juistheid van de literatuurgegevens of van de hier gevonden waarden.

De resultaten brengen ook een verschil tussen de gegevens die met PI, respectievelijk PII bekomen werden. De PI-resultaten vertonen een duidelijke invloed van het aantal buizen op de overeenkomst tussen de literatuurwaarden en de berekende gegevens. Hoe hoger het aantal buizen, hoe minder goed de overeenkomst blijkt te zijn, althans bij het gebruik van de hogere REF waarden. Een dergelijke, duidelijke trend treedt niet op bij de PII-resultaten.

Over het algemeen kan worden gezegd, dat de overeenkomst goed is wanneer de REF-waarde beperkt blijft tot 2. En vermits onder deze omstandigheden PI sneller draait dan PII verdient het eerst genoemde programma de voorkeur.

BESLUIT.

De mogelijkheden van een micro-processor voor het berekenen van MPN-waarden werden onderzocht. Hierbij bleek dat de globale tijd die vereist is voor het invoeren van de gegevens en voor het uitvoeren van de berekeningen ten dele afhankelijk is van de wijze waarop de iteratieve berekening wordt afgebroken. Die globale tijd is evenwel zo kort dat met dit soort verschillen tussen de programma's nauwelijks rekening dient gehouden te worden. Bij de in dit onderzoek uitgeteste combinaties aan voorwaarden bleek het invoeren van de gegevens beslas te lessen op 50 % of meer van de globale tijd. Deze laatste was van een orde van grootte van 5 seconden. Zelfs met een schrijfmachine-opstelling van de cijfertoetsen zal in de praktijk het invoeren van de gegevens sneller verlopen vermits beide handen zullen kunnen gebruikt worden. De globale tijd zal partieel ook afhangen van de gebruikte processor. Er wordt evenwel gemeend dat de verschillen niet zo'n omvang zullen aannemen dat de voordelen van een in

situ berekening zouden dienen prijsgegeven te worden. Dankzij het gebruik van een hogere programmeertaal kunnen programma's gemakkelijk ontwikkeld worden, zodat de behandeling van gemutileerde gegevens mogelijk wordt, kan door gebruik te maken van bijzondere verdunningschema's de precisie zo nodig worden opgedreven en kan in een programma de berekening van een standaardafwijking of van een betrouwbaarheidsinterval voorzien worden zodat ook de interpretatie van de gegevens versimpelacht wordt.

Op basis van de beschikbare gegevens kan een goede overeenkomst met de literatuurgegevens worden verwacht indien de REF-waarde beperkt wordt tot een hoogste waarde van 2. Onder deze omstandigheden loopt PI iets sneller dan PII zodat eerstgenoemde programma de voorkeur verdient.

LITERATUUR.

1. BOARD, R. G. - A Modern Introduction to Food Microbiology. (1983)pg 150, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
2. DESCHACHT, W. - J. APPL. BACT. (1983)55,499-500.
3. FINNSTEIN, M. S. - Pollution Microbiology. (1972)pg 167-168, Marcel Dekker, Inc., New-York.
4. JOHNSON, S. P. - The pollution Control Policy of the European Communities. (1979)pg 14, Graham & Trotman Limited, London.
5. MEYNELL, G. G. & E. MEYNELL - Theory and Practice in Experimental Bacteriology. 2nd Ed.(1975)pg 231-235, Cambridge University Press, Cambridge.
6. PARNOW, R. J. - FOOD TECHNOLOGY. (1972)July, pg 56-62.
7. SOKAL, R. R. & F. J. ROHLF - Biometry. (1969)pg 398-399, W. H. Freeman and Company, San Francisco.

